

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Tierexperimentelle Untersuchungen mit Tumor-Transferrin-Komplexen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Hans-Wolfgang Herbst

aus

Kulmbach

D 29

1970

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg.



Dekan: Prof. Dr. W. Schiefer

Referent: Prof. Dr. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung:

25. Sep. 1970

Medicina Experimentalis

Redactor: H. HARDERS, Hamburg

S. KARGER – BASEL/NEW YORK (Printed in Switzerland)

SEPARATUM

Med. exp. 19: 170–182 (1969)

Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses Erlangen-
Nürnberg (Vorstand: Prof. Dr. *F. Scheiffarth*)

Tierexperimentelle Untersuchungen mit Tumor-Transferrin-Komplexen

F. SCHEIFFARTH, H. GÖTZ und H. W. HERBST

Eine spezifische, immunologisch definierbare Auseinandersetzung zwischen Tumorgewebe und Trägerorganismus konnte nach bisherigen Erfahrungen, abgesehen von chemisch- und virusinduzierten Tumoren, weder in der Humanpathologie noch in der experimentellen Medizin unter Beweis gestellt werden.

Dies führte dazu, tierexperimentelle Modellversuche zu erproben, die eine aktive Immunisierung eines tumorbefallenen Organismus mit seinem eigenen Tumor ermöglichen.

Die einschlägige Literatur hat derartige Modellversuche bereits in den Jahren um die Jahrhundertwende [14], aber auch in jüngster Zeit [2, 3, 13, 16] zur Diskussion gestellt. Eigene tierexperimentelle Studien [6, 19, 21, 22, 20, 4, 7] haben gezeigt, dass in einem nicht geringen Prozentsatz die Modifikation von Tumorproteinen bzw. Tumorzellen mit Reapplikation dieses quasi antigenmodifizierten Materials zu einer deutlichen Rückbildung, ja sogar zu einem völligen Schwund des nicht exstirpierten Tumorgewebes führt.

In Ergänzung der bisherigen eigenen Ergebnisse und vor allem zum weiteren Studium einzelner Fragen aus dem Gebiet der Tumor-Immunologie wurde in nachfolgend beschriebener Untersuchungsserie der Versuch unternommen, ein heterologes Transferrin an intakte Tumorzellen zu koppeln und eine der Transplantationsreaktion vergleichbare Reaktivität in dem tumortragenden Organismus zu induzieren.

I. Untersuchungsgut und Versuchsanordnung

1. Untersuchungsgut

Es wurden insgesamt 30 Wistar-Ratten¹ in Versuch genommen. Die Tiere wurden in zwei Gruppen aufgeteilt, wobei die eine als Hauptversuchsgruppe (25 Tiere), die andere als Kontrollgruppe (5 Tiere) dienten.

2. Versuchsanordnung

Vor Versuchsbeginn sowie am Ende des Versuchs wurden die Seren sämtlicher Tiere auf zirkulierende Tumor-Antikörper sowie auf Veränderungen innerhalb der Serumeiweisskörper untersucht. Dabei kamen im wesentlichen folgende Methoden zur Anwendung:

Passive Hämagglutinationsreaktion nach *Boyden*, zweidimensionale Immunodiffusion nach *Ouchterlony*, Cellulose-Acetat-Folien-Elektrophorese (CAF) sowie schliesslich Immunoelktrophorese nach *Grabar* und *Williams*.

Sämtliche Tiere erhielten das intakte Zellfiltrat eines rattentransplantablen Tumors transplantiert. Mit Ausnahme der Kontrollgruppe wurde den Tieren der Hauptversuchsgruppe vom 5. Tag nach Transplantation, das heisst zu einem Zeitpunkt, zu welchem sämtliche Tumoren angegangen waren, ein Kuppelungspräparat (unter Zuhilfenahme der BDB-Technik, aus Tumorzellfiltrat und Humantransferrin²) über einen Zeitraum von 10 Tagen mehrfach appliziert. Die Tiere wurden nunmehr ohne weitere Behandlung belassen und täglich beobachtet.

Während der Versuchszeit wurden sämtliche Tiere (Hauptversuchsgruppe und Kontrollgruppe) nach den Ausgangswerten vor der Sensibilisierungsserie ein erstes Mal kontrolliert. Dazu wurde lediglich Serum gewonnen, welches auf präzipitierende und agglutinierende Serumantikörper sowie auf ihre Serumeiweisskonstellation untersucht wurde.

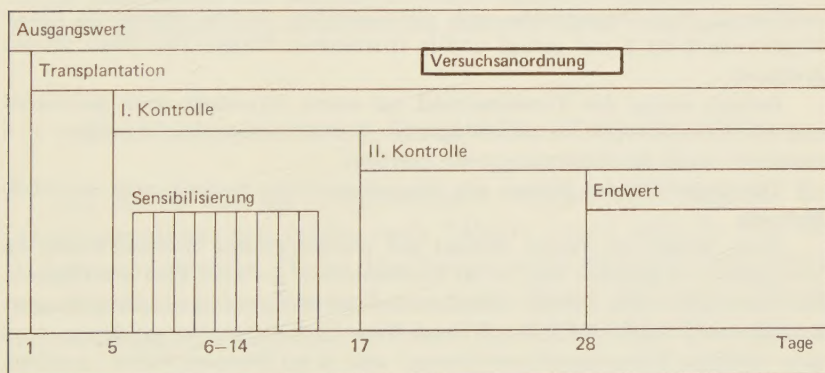


Abb. 1. Versuchsanordnung.

¹ Die Tiere wurden von der Firma Kramer, Köln, bezogen.

² Humantransferrin der Behringerwerke, Marburg/Lahn, O.P. Nr. 167.

Eine weitere Kontrolle mit den gleichen Nachweisen erfolgte nach Abschluss der Sensibilisierungsserie, d. h. am 17. Tag nach Versuchsbeginn (siehe unter anderem auch Abb. 1).

II. Methodik

1. Serumgewinnung

Die Tierseren wurden durch einfaches Kappen des Schwanzes der flüchtig narkotisierten Ratten in ausreichendem Masse gewonnen. Dabei wurde das Blut wenigstens zwei Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen und zehn Minuten lang bei 2500 Upm zentrifugiert.

Abgesehen von wenigen leicht hämolytischen oder auch leicht lipämisch getrübten Seren wurden prinzipiell nur klare Seren für die weiteren Untersuchungen verwertet.

2. Transplantationstechnik

Von einem tumortragenden Tier³ wurde nach Tötung im Ätherrausch das maligne Transplantat *in toto* entnommen und sorgfältig von peritumoralem und tumorfreiem Bindegewebe befreit.

Der exstirpierte Tumor wurde kurzfristig unter fließendem Wasser gewaschen, zerkleinert und anschließend durch die Embryonenpresse getrieben, wobei weitgehend steril gearbeitet wurde. Das so gewonnene Zellfiltrat wurde im Verhältnis 1 : 4 mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und ebenfalls unter Wahrung steriler Kautelen in die seitliche Bauchhaut am linken Hinterlauf des Versuchstiers injiziert.

Im allgemeinen wurde 1,0 ml pro Inokulationsstelle und Tier appliziert.

3. Aufbereitung des Sensibilisierungsmaterials

Der Tumor wurde aus tumortragenden Ratten weitgehend steril *in toto* entnommen, von Bindegewebe und peritumoralem Gewebe befreit, in kleine Würfel von 2 bis 3 cm³ zerlegt und in fließendem Wasser eine halbe Stunde gewässert.

Danach wurde das Tumormaterial auf einem Nylontuch grob getrocknet und die Gewebsbröckel in physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 4 vermischt durch die Embryonenpresse gedrückt.

Die Koppelung des Filtrats mit Humantransferrin geschah nach der BDB-Methode.

Dazu wurde das Filtrat dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 4 gemischt und in der Kühlzentrifuge bei 1500 Upm zentrifugiert. Der Überstand wurde jeweils verworfen und anschließend eine 2,5%ige Tumorzellsuspension hergestellt. 0,25 ml dieser Tumorzell-Suspension wurden zu 5 ml einer 0,4%igen Humantransferrin-Lösung⁴ und 10 ml Sörensen-Puffer⁵ gegeben.

³ Walker-Carcinom-tragende Ratte, die uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. Grundmann, Farbenfabriken Bayer, geschickt wurde.

⁴ Behringerwerke, Marburg/Lahn, O.P. Nr. 167.

⁵ 0,15 m Na₂HPO₄ + 0,15 m KH₂PO₄, pH = 7,4.

Danach wurden 0,1 ml einer zweiten Lösung zugegeben, welche sich aus Benzidinreagenz⁶ und Sörensen-Puffer im Verhältnis 1 : 14 zusammensetzte. Dieses Gemisch wurde bei Zimmertemperatur 10 min stehengelassen. Nach Abzentrifugieren und Verwerfen des Überstands wurde dreimal mit Sörensen-Puffer gewaschen und schliesslich mit physiologischer Kochsalzlösung auf 10 ml aufgefüllt.

4. Sensibilisierungsmodus

Von dem oben beschriebenen Antigenpräparat wurden pro Tier und Injektion jeweils 1 ml in die seitliche Bauchhaut s.c. appliziert. Diese Applikationen erfolgten täglich (Abb. 1) auf die Dauer von 10 Tagen.

5. Antikörpernachweise

a) *Zweidimensionale Immuno-Doppeldiffusion*. Zum Nachweis präzipitierender AK gegen Tumorproteine wurde die zweidimensionale Immunodiffusion im Agargel nach *Ouchterlony* [17] gewählt.

b) *Passive Hämagglutinationsreaktion*. Zum Nachweis agglutinierender Antikörper gegen Tumorphomogenat wurde die Methode der passiven Hämagglutination nach *Boyden* [1] angewandt. Für beide Reaktionen (a) und (b) wurde u. a. Tumorphomogenat als Antigen verwendet.

6. Elektrophorese-Techniken

a) *Cellogelstreifen-Elektrophorese*. Zur Analyse der Serumeiweisskörper wurde die Cellogelstreifen-Elektrophorese nach den Angaben von *Kohn* [12] verwendet⁷. Die mit der CAFE gewonnenen relativen Prozente wurden nach den klassischen Angaben der Statistik [15] ausgewertet.

b) *Immunoelktrophorese*. Die Immunoelktrophorese wurde im wesentlichen nach den Angaben von *Grabar* und *Williams* [8, 9, 10, 24] bzw. mit der Mikromethode nach *Scheidegger* [18] vorgenommen. Dabei wurde jeweils in einem Analysensatz das Rattenserum elektrophoretisch differenziert und am Ende der Trennung gegen ein spezifisches Anti-Ratte-Serum⁸ auspräzipitiert.

Beobachtungen an den Tieren während des Versuches

Mit Bezug auf die Überlebenszeit ergaben sich folgende Beobachtungstatsachen (siehe auch Tabelle I und Abb. 2): Von der Hauptversuchsreihe (Tiere, die Tumorzellen transplantiert erhielten und nach einem Intervall von sechs Tagen mit Tumor-Transferrin-Komplex behandelt wurden) überlebten alle Tiere bis zu

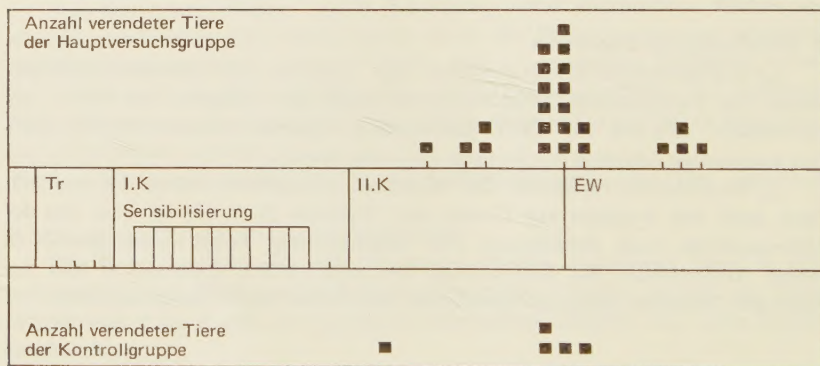
⁶ 0,23 g Benzidin p.a. in 45 ml 0,2 HCl und 0,1765 g NaNO₂ in 5 ml A. dest.

⁷ Als Kammer kamen das Gerät von Dr. *Bender* und Dr. *Hobein* sowie Selecta-Elektrophoresefolien 18 × 160 mm (ebenfalls Dr. *Bender* und Dr. *Hobein*, München), ferner Filtrierpapier der Firma Schleicher & Schüll zur Anwendung.

⁸ Anti-Ratte-Serum, Behringerwerke, Marburg/Lahn, O.P. Nr. 420 A.

Tabelle I (oben) und Abb. 2 (unten). Beobachtungen an den Tieren während des Versuches

Versuchsanordnung	II.K						E					
Tag nach Transplantation	17	19	21	23	24	27	28	29	33	34	35	39
Hauptversuchsgruppe												
Lebende	25	25	24	23	21	15	8	6	5	3	2	0
Lebende in %		100	96	92	84	60	32	24	20	12	8	0
Verendete Tiere			1	1	2	6	7	2	1	2	1	2
Verendete Tiere in %			4	8	16	40	68	76	80	88	92	100
Kontrollgruppe												
Lebende	5	4				2	1	0				
Lebende in %	100	80				40	20	0				
Verendete Tiere		1				2	1	1				
Verendete Tiere in %		20				60	80	100				



Zeichenerklärung:

Tr: Transplantation, K: Kontrolluntersuchung, EW: Endwerte.

21 Tage nach Transplantation. Am 27. und 28. Tag nach Transplantation gingen insgesamt 13 Tiere ein, während am 21., 23. und 24. Tag ebenso wie am 29. bis 39. Tag jeweils ein bis zwei Tiere *ad exitum* kamen.

Am 29. Tag nach Transplantation lebten noch sechs Tiere (das sind 24%), am 33. Tag noch fünf (20%) und am 35. Tag noch zwei Tiere (8%), die am 39. Tag post transplantationem verendeten.

Eine Retardierung des Tumorstwachstums wurde in der Hauptversuchsgruppe gegenüber den Kontrolltieren nicht eindeutig wahrgenommen.

Von den Tieren der Kontrollgruppe (Tiere ohne weitere Behandlung, sie wurden nur transplantiert) waren bis zum 19. Tag nach Transplantation sämtliche Tiere am Leben geblieben. Am 19. Tag ging ein Tier, am 27. Tag gingen zwei Tiere (40%), am 28. und 29. Tag post transplantationem je ein Tier (20%) ein.

Die transplantierten Tumoren wuchsen kontinuierlich bis zu durchschnittlich Hühnereigrösse heran und zeigten zumeist zentrale Nekrosen.

Alle Tiere gingen unter Zeichen allgemeiner Kachexie zugrunde.

Ergebnisse der zweidimensionalen Immunodiffusion nach Ouchterlony

Bei Untersuchung der nicht behandelten Tiere konnte in keinem Fall mit den verwendeten Antigenpräparaten eine Präzipitatabildung nachgewiesen werden.

Bei der 1. Kontrolle war sowohl in der Hauptversuchsgruppe als auch in der Kontrollgruppe bei keinem Tier eine positive Präzipitation nachweisbar.

Bei der 2. Kontrolle liess sich bei allen Tieren der Hauptversuchsgruppe unter Verwendung der Transferrins eine Präzipitationslinie nachweisen, die allerdings an Intensität unterschiedlich in Erscheinung trat. Gegen Tumor hingegen konnte in keinem Fall ein sicheres Präzipitat dargestellt werden.

In der Gruppe der Kontrolltiere war weder bei der 2. Kontrolle noch am Ende der Versuchsserie eine positive Präzipitationsreaktion nachweisbar (vgl. auch Tabelle II).

Hämagglutinationsreaktion nach Boyden

Die Untersuchung mit den Ausgangsseren der Tiere beider Gruppen erwiesen sich sämtlich als negativ. Die Ergebnisse am Ende der Versuchsserie sind folgendermassen aufzugliedern (siehe auch Tab. II und III):

Tabellen II (oben) und III (unten). Ergebnisse der zweidimensionalen Immuno-Doppeldiffusion im Agargel und der passiven Hämagglutinationsreaktion

Hauptversuchsgruppe						Kontrollgruppe					
VA	Tier- zahl	Präzipitation		Hämagglutin.		VA	Tier- zahl	Präzipitation		Hämagglutin.	
		Reaktion		Titer				Reaktion		Titer	
		Tf	Tu	Tf	Tu			Tf	Tu	Tf	Tu
A	25	Ø	Ø	Ø	Ø	A	5	Ø	Ø	Ø	Ø
I.K	25	Ø	Ø	—	—	I.K	5	Ø	Ø	—	—
II.K	25	+	Ø	—	—	II.K	5	Ø	Ø	—	—
E	15	+	Ø	1 : 96	1 : 8	E	1	Ø	Ø	Ø	Ø

Hämagglutinationsergebnisse der Hauptversuchsgruppe			
Tier-Nr.	Transferrin	Tumor	
1	1 : 16	1 : 16	häm.
2	1 : 64		häm.
3	1 : 8		häm.
4	1 : 512	1 : 4	häm.
5	1 : 512	1 : 16	häm.
6	1 : 512		häm.
7	1 : 512		häm.
8	1 : 256		häm.
9	1 : 128	1 : 16	häm.
10	1 : 16	1 : 4	häm.
11	1 : 64	1 : 2	häm.
12	1 : 128		häm.
13	1 : 256		häm.
14	1 : 16		häm.
15	1 : 32		häm.
Mittelwert	1 : 96	1 : 8	

Zeichenerklärung:

Tf: Transferrin, Tu: Tumor, A: Ausgangswert, E: Endwert, K: Kontrolluntersuchung, VA: Versuchsanordnung, häm: hämolytisch.

In der Hauptversuchsgruppe lassen sich von den 15 verbliebenen Tieren bei Verwendung von Transferrin Titerstufen von 1 : 8 bis 1 : 512 mit positiver Agglutinationsreaktion nachweisen. Der Mittelwert lag bei 1 : 96, d. h. zwischen 1 : 64 (= Stufe 7) und 1 : 128 (entspricht Stufe 8).

Pathologisch positive Agglutinationen ergaben sich bei 11 von 15 Tieren (das sind 73%), wenn man einen Titer von 1 : 32 als positiv betrachtet.

In der Kontrollgruppe ergaben sich in keinem Fall Agglutinationen.

Bei Verwendung von Tumorphomogenat als Antigen konnte in der Hauptversuchsgruppe bei sechs Tieren eine einwandfrei positive Agglutination in Titerstufen zwischen 1 : 2 und 1 : 16 nachgewiesen werden. In den folgenden Verdünnungsstufen imponierte in sämtlichen Beispielen eine Hämolysereaktion. Bei den übrigen Tieren dieser Gruppe konnten jedoch keine Agglutinatbildungen aufgezeigt werden. Es fiel dagegen auf, dass die Seren durchweg hämolysiert waren.

Bei den Tieren der Kontrollgruppe liess sich mit Tumorphomogenat in keinem Fall ein positives Resultat aufzeigen. Dagegen fiel auch hier die Neigung der Seren zur Hämolyse auf.

Verhalten der Serumeiweisskörper

a) Cellogelstreifen-Elektrophorese-Befunde

Die elektrophoretisch differenzierten Seren zeigten vor Versuchsbeginn Relativprozente, wie sie im Prinzip dem Verteilungsmuster normaler Ratten entsprechen. Bereits bei der 1. Kontrolle ergab sich in der Hauptversuchsgruppe eine deutliche Dysproteinämie mit Hypalbuminämie und einer relativen Globulin-Vermehrung, vor allem im Bereich der β - und γ -Globuline. Im weiteren Verlauf des Versuchs vertiefte sich die Dysproteinämie mit einer Relationsverschiebung zugunsten der α_1 -, α_2 - und β -Globuline. Die Verminderung des Albumins war hier gegenüber dem Ausgangswert signifikant, ebenso die Anreicherung der α_2 - und der β -Globuline. Bei der Kontrollgruppe ergab sich ebenfalls eine Dysproteinämie, wobei jedoch die Relationsänderungen nicht so offensichtlich in Erscheinung traten. Hiervon abgesehen, wechselte der Dysproteinämietyp nicht.

b) Immunoelektrophorese

Die immunoelektrophoretischen Befunde entsprachen in etwa der Relationsverschiebung der Cellogelelektrophorese. Trotz der besseren Differenzierung der Serumeiweißkörper mit Hilfe dieser Methode konnten Besonderheiten, so das Auftreten von atypischen Proteinen, nicht wahrgenommen werden.

Diskussion

Die vorliegenden Versuchsbedingungen waren mit der Absicht gewählt worden, durch Koppelung eines heterologen Proteins (Transferrin) an Tumorzellen (Walker-Ca), die sonst gegen den transplantablen Tumor tolerant sind, in Tierorganismen eine aktive Sensibilisierung zu induzieren.

Theoretisch müssten die so behandelten Tiere sowohl gegen das heterologe Transferrin als auch gegen die komplexgebundenen Tumorzellen spezifische Antikörper bilden. Gegen die Tumorzellen sind hier sogar spezifische Transplantationsantikörper zu erwarten, weil in der vorliegenden Versuchsanordnung nicht ein Tumorphomogenat, sondern ein Zellfiltrat verwendet wurde. Die Versuchsergebnisse haben gezeigt, dass tatsächlich im Verlaufe des Versuchs die erwarteten heterologen Antikörper gegen Transferrin — hier als zirkulierende Antikörper — nachgewiesen wurden. Zirkulierende und agglutinierende Antikörper gegen Tumorzellen konnten in sechs Fällen mit Titern zwischen 1 : 2 und 1 : 16 aufgezeigt werden.

Auf Grund der Beobachtungen an den Tieren konnten jedoch zu diesem Zeitpunkt, d. h. zum Zeitpunkt des ersten Tumor-Antikörper-Nachweises, keine Hemmwirkungen des Tumorstwachstums wahrgenommen werden.

Offenbar war unter den gegebenen Umständen die gewebliche Abwehrreaktion zu gering, um ein Hemm- oder Abstossungsphänomen zu bewirken.

Diese zwar spezifische, aber ungenügende Tumorantikörperbildung kann folgendermassen erklärt werden: Unter der zunächst hypothetischen Voraussetzung, dass solche Antikörper gebildet sein konnten, lag eine Diskrepanz zwischen dem Antikörperangebot und dem antigenen, überstürzt wachsenden Tumormaterial vor. Es wurden vorwiegend Transplantationsantikörper gebildet,

die bekanntlich an Gewebslymphozyten gebunden und nur im peritumoralen Gewebe bzw. in den Bildungszentren des retikulo-histiozytären Systems nachweisbar sind. Diese wurden in den vorliegenden Studien mit entsprechenden Methoden nicht dokumentiert.

Zur Frage steht ausserdem, ob die Antigenaufbereitung mit der Zielsetzung eines Transferrin-Tumor-Komplexes eine solche Komplexbildung in einem ausreichenden Mass zur Folge hatte, so dass mit einer spezifischen Antikörperinduktion mit Bezug auf Transplantationsantikörper gegen Tumorzellen gerechnet werden konnte.

Am ehesten ist anzunehmen, dass für die ungünstige Erfolgsquote bezüglich einer Tumورهemmung zum Zeitpunkt einer möglichen immunologischen Reaktivität bei den relativ stark herangewachsenen Tumortransplantaten das enorme Missverhältnis zwischen produzierten Antikörpern und dem immensen Antigenangebot angeschuldigt werden muss. Für diese Annahme sprechen u. a. die Beobachtungen an den Tieren selbst mit dem sichtbar schnellen Tumorwachstum und der sich entwickelnden Tumorkachexie sowie das Verhalten der Serumeiweisskörper, das einen allgemeinen schweren, eiweisskonsumierenden Prozess dokumentiert.

Immerhin muss bedacht werden, dass für die Verhältnisse der Humanpathologie die hier vorliegende Versuchsanordnung am ehesten zutrifft. Man hat doch in der klinischen Medizin meist mit dem Tatbestand zu rechnen, dass ein Tumorgeschehen manifest geworden ist und im allgemeinen progredient verläuft. Jede therapeutische Massnahme mit dem Ziel einer immunologisch induzierten Tumorabstossung muss infolgedessen diesen Gegebenheiten gerecht werden.

Das vorliegende Tierexperiment lehrt, dass die Möglichkeit einer aktiven Immunisierung mit dem individuelleigenen Tumormaterial nach geringfügiger Korrektur der Antigeneigenschaften möglich ist, dass aber vorher eine weitgehend operative Entfernung eines Primärtumors, d. h. des antigenen Materials, erforderlich ist.

Immerhin konnte in tierexperimentellen Versuchen mit demselben Tumor im Rahmen einer Austauschtransplantation unter stammesverschiedenen Tieren gezeigt werden, dass ohne zusätzliche Behandlung des Tumorzellmaterials, offenbar allein durch

einen Isosensibilisierungseffekt, eine völlige Heilung bzw. ein deutlich tumorhemmender Wirkungsmechanismus erzielt wurde [20].

Zusammenfassung

Dreissig Ratten gleichen Stammes und Geschlechts, aufgeteilt in fünfundzwanzig Tiere einer Hauptversuchsgruppe und fünf Kontrolltiere, wurde subcutan Walker-Karzinomzellen appliziert. Nach Serumgewinnung für Cellogel- und Immunelektrophorese und Nachweis von agglutinierenden und präzipitierenden Antikörpern wurden die Tiere der Hauptversuchsgruppe über zehn Tage mit einem Komplex aus Walker-Karzinomzellen und Humantransferrin sensibilisiert.

Diese Art der Sensibilisierung mit nach der BDB-Methode an Transferrin gekoppelten Tumorzellen führte wohl zu einer Antikörperbildung gegen das Transferrin, nicht aber zu einer von einem ausreichenden Hemmeffekt begleiteten immunologischen Reaktivität gegen den Tumor selbst.

Summary

The present paper deals with experiences of 30 rats of an inbred strain and of the same sex bearing Walker carcinoma. 25 of them got a series of subcutaneously injected suspensions consisting of a complex of Walker tumour cells combined with human transferrin by BDB-technique. The other five animals only got a first tumour cell suspension inoculated and were no longer treated.

This modus of treatment with tumour cell – human transferrin suspensions in tumour bearing rats failed to result in a successful tumour-transplantation immunity. There were no indicators of a true transplantation reaction or circulating antibodies. There were only antibodies against human transferrins.

Literatur

1. *Boyden, S. V.*: The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. *J. exp. Med.* **93**: 107-120 (1951).
2. *Czajkowski, N. P.; Rosenblatt, M.; Wolf, P. L. and Vazquez, J.*: A new method of active immunisation to autologous human tumour tissue. *Lancet* **ii**: 905 (1967).
3. *Fujiwara, M. and Natata, T.*: Induction of tumour immunity with tumour cells treated with extract of garlic (*Allium sativum*). *Nature, Lond.* **216**: 83 (1967).
4. *Götz, H.*: Antigenität von Tumorproteinen. Habilitationsschrift, Erlangen 1968.
5. *Götz, H.; Berg, G. und Scheiffarth, F.*: Methodische Grundlagen der Immunelektrophorese. *Z. ImmunForsch.* **114**: 72-84 (1957).

6. Götz, H.; Scheiffarth, F.; Warnatz, H. und Klobe, U.: Serologische und immunologische Studien an tumortragenden Ratten unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Mitteilung II, Walker-Tumoren. (Zum Druck vorbereitet.)
7. Götz, H. und Schöfthaler, R.: Immunologisch verursachte Wachstums-
hemmung maligner Tumoren. (Zum Druck vorbereitet.)
8. Grabar, P.: a) Études sur les protéines à l'aide de méthodes immuno-
chimiques. Bull. Soc. Chim. biol. 36: 65 (1954). — b) Die Anwendung immuno-
chemischer Methoden bei der Untersuchung der Proteine, insbesondere der
Serumproteine. Dtsch. med. Wschr. 79: 1916 (1954). — c) Untersuchung von
Serumeiweißstoffen mit Hilfe immunochemischer Methoden. Zbl. Bakt. 164:
15 (1955).
9. Grabar, P. et Burtin, P.: a) Analyse immunoélectrophorétique. Application
aux liquides humains biologiques (Masson, Paris 1960). — b) Immuno-
elektrophoretische Analyse (Elsevier, Amsterdam 1964).
10. Grabar, P. et Williams, C. A.: a) Méthode permettant l'étude conjuguée des
propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines,
application au sérum sanguin. Biochim. biophys. Acta 10: 193-194 (1953).
— b) Méthode immunoélectrophorétique d'analyse de mélanges de sub-
stances antigéniques. Biochim. biophys. Acta 17: 67 (1955).
11. Henning, N.: Klinische Laboratoriumsdiagnostik, 3. Aufl. (Urban & Schwar-
zenberg, München/Berlin/Wien 1966).
12. Kohn, J.: a) A new supporting medium for zone electrophoresis. Biochem. J.
65: 9 (1957). — b) A cellulose acetate supporting medium for zone electro-
phoresis. Clin. chim. Acta 2: 297 (1957). — c) Zur Technik der Cellulose-
azetat-Elektrophorese. Ärztl. Lab. 10: 233 (1964). — d) Zur Technik der
Celluloseazetat-Elektrophorese. Ärztl. Lab. 10: 269 (1964).
13. Kosower, E. M.: The therapeutic possibilities arising from the chemical
modification of proteins. Proc. N.A.S. 53: 897-901 (1965).
14. Leyden, E. von und Blumenthal, F.: Vorläufige Mittheilungen über einige
Ergebnisse der Krebsforschung auf der I. Medizinischen Klinik. Dtsch. med.
Wschr. 36: 637 (1902).
15. Linder, A.: Statistische Methoden für Mediziner, Naturwissenschaftler und
Ingenieure (Birkhäuser, Basel 1964).
16. Nadler, S. und Moore, G.: a) Immunologische Krebstherapie. Dtsch. Ärztebl.
3 (1966). — b) Evaluation of the effectiveness of immunologically activated
lymphoid cells against cancer cells. Surg. Forum 16: 229 (1965). — c) Clinical
immunologic study of malignant disease: Response to tumour transplants and
transfer of leukocytes. Ann. Surg. 164: 482 (1966).
17. Ouchterlony, O.: a) Diffusion-in-gel methods for immunological analyses.
Progr. Allergy, vol. 5, pp. 1-78 (Karger, Basel/New York 1958). — b) Gel-
diffusion techniques. 15. Colloquium d. Ges. für Physiol. Chem. in Mosbach/
Baden, pp. 13-15 (Springer, Berlin/Heidelberg/New York 1965).
18. Scheidegger, J. J.: Une microméthode de l'immunoélectrophorèse. Int. Arch.
Allergy 7: 103 (1955).
19. Scheiffarth, F.; Götz, H. und Lehr, E.: Tierexperimentelle Studien zur Iso-
sensibilisierung mit Tumorproteinen. (Versuche an ein und demselben
Tierstamm.) Med. exp. 18: 86-94 (1968).

20. Scheiffarth, F.; Götz, H. und Mundhenke, U.: Tierexperimentelle Studien zur Isosensibilisierung von Tumorproteinen. (Versuche an zwei Tierstämmen.) *Med. exp.* 18: 95-102 (1968).
21. Scheiffarth, F.; Götz, H.; Warnatz, H. und Günther, K.: Serologische und immunologische Studien an tumortragenden Ratten unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Mittl. I. Yoshida-Tumoren (für den Druck vorbereitet).
22. Scheiffarth, F.; Warnatz, H.; Götz, H. und Rohrwasser, M.: Immunologische Studien am Walker-Karzinom und Yoshida-Sarkom. *Z. Krebsforsch.* 70: 178 (1967).
23. Schwick, G. und Störiko, K.: Laboratoriumsblätter für die medizinische Diagnostik. Ausgabe Mai 1964 (ergänzte Neuauflage, Juni 1965). Behringwerke AG, Marburg/Lahn.

Adresse der Autoren: Prof. Dr. F. Scheiffarth, PD Dr. H. Götz und H. W. Herbst, Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg, D-852 Erlangen (Deutschland).

Lebenslauf

Ich Hans-Wolfgang Herbst wurde am 20. Juli 1943 als Sohn des Sparkassenbeamten Hans Herbst und dessen Ehefrau Betty, geb. Schott, in Kulmbach geboren. Dort besuchte ich von 1949 - 1954 die Volksschule, um anschließend in das Markgraf-Georg-Friedrich-Gymnasium Kulmbach überzutreten, wo ich im Juli 1963 die Reifeprüfung ablegte. Im Oktober 1963 wurde ich zum Wehrdienst eingezogen und begann im November 1964 mit dem Medizinstudium an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, wo ich im Frühjahr 1967 das Physikum bestand. Am 22. Juli 1970 beendete ich mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen. Seit dem 1. September 1970 bin ich im Stadt- und Kreis Krankenhaus Kulmbach als Medizinalassistent tätig.

